

Pengaruh Pemberian Astaxanthin terhadap Aktivitas Enzim Alanin Aminotransferase Serum Tikus Putih Jantan(*Rattus Norvegicus*) Galur Wistar yang diinduksi Formaldehid secara Oral

Jonathan M.S. Pakpahan¹, Andriani², Sari Eka Pratiwi³

¹ Program Studi Kedokteran, FK UNTAN

² Departemen Biokimia Medik, Program Studi Kedokteran, FK UNTAN

³ Departemen Biologi dan Patobiologi, Program Studi Kedokteran, FK UNTAN

Abstrak

Latar Belakang. Formaldehid umumnya sudah disalahgunakan sebagai bahan pengawet pada makanan. Formaldehid yang bersifat sangat reaktif dapat memicu peningkatan produksi radikal bebas yang dapat merusak jaringan hepar, sehingga memicu keluarnya enzim spesifik pada jaringan hepar menuju sirkulasi darah. Adanya terapi untuk mengurangi efek buruk dari peningkatan radikal bebas tersebut, salah satunya astaxanthin yang diharapkan dapat memperbaiki kerusakan pada jaringan hepar. **Metode.** Desain penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan rancangan penelitian *pre and posttest-only control group design*. Dalam penelitian ini digunakan sebanyak 30 tikus dan dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol normal; kelompok kontrol negatif hanya diberikan induksi formaldehid; Kelompok dosis 1 diberikan astaxanthin 12 mg/hari; kelompok dosis 2 diberikan astaxanthin 24 mg/hari; kelompok dosis 3 diberikan astaxanthin 48 mg/hari. Data dianalisis dengan *One Way ANOVA* dilanjutkan *Post Hoc Test LSD*. **Hasil.** Berdasarkan hasil analisis data menunjukkan perbedaan yang bermakna pada rata-rata aktivitas ALT kelompok kontrol normal dengan kelompok kontrol negatif, dosis I, II, dan III astaxanthin ($p < 0,05$) pada pengukuran aktivitas ALT sebelum perlakuan (*pretest*). Pada pengukuran aktivitas ALT setelah perlakuan (*posttest*) terdapat perbedaan bermakna pada rata-rata aktivitas ALT kelompok normal dengan kelompok kontrol negatif, dosis II, dan dosis III astaxanthin ($p < 0,05$). Dosis terbaik yang didapatkan adalah 48 mg/hari. **Kesimpulan.** Astaxanthin dapat berperan sebagai terapi pada kerusakan jaringan hepar dengan adanya penurunan aktivitas enzim ALT dengan dosis terbaik astaxanthin adalah 48 mg/hari.

Kata Kunci: Antioksidan, astaxanthin, formaldehid, aktivitas ALT

Background. Formaldehyde is an aldehyde derivative which is illegally used as a food preservative. Formaldehyde, which is highly reactive, can trigger the production of free radicals that can damage liver tissues, thereby triggering the release of specific enzymes in the liver to the blood circulation network. Astaxanthin is one of the antioxidant which can be used to tackle the deleterious effect of the increased production of free radicals. Astaxanthin is expected to repair liver tissue injury by reducing the adverse effects from the free radicals. **Method.** This study used experimental design with pretest and posttest-only control group design. Thirty rats were divided into 5 groups. Normal control group; the negative control group which was given only formaldehyde; Group 1 which was given a 12 mg / day dose of astaxanthin; Group 2 which was given a 24 mg / day dose of astaxanthin; Group 3 which was given 48 mg / day dose of astaxanthin. The data were analyzed by *One Way ANOVA* followed by *LSD Post Hoc Test*. **Result.** Based on the results of data analysis showed a significant difference of ALT enzyme activity between normal control group with negative control group, dose I, II, and III of astaxanthin group ($p < 0.05$) before the treatment (*pretest*). The measurement of ALT enzyme activity after treatment (*posttest*) showed a significant differences between normal control group with the negative control group, dose II, and dose III of astaxanthin group ($p < 0.05$). The best dose from the treatment is 48 mg / day from dose III group of astxanthin. **Conclusion.** Astaxanthin could act as a therapy for liver tissue injury with the marked decrease of ALT enzyme activity in serum with the best dose was found in group 48 mg / day.

Keywords: antioxidant, astaxanthin, formaldehyde, ALT activity

PENDAHULUAN

Hati atau hepar merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh yang sangat berperan penting dalam mempertahankan kehidupan karena hati berperan dalam hampir setiap fungsi metabolik dalam tubuh, sehingga hati disebut sebagai organ metabolik terbesar dan terpenting dalam tubuh.¹ Organ ini sebagai pabrik biokimia utama tubuh yang berperan dalam sekresi garam empedu, mendetoksifikasi atau menguraikan zat sisa tubuh maupun zat-zat asing yang masuk, berfungsi dalam membentuk protein plasma, mengeluarkan bakteri dan sel darah merah tua, serta mengekskresikan kolesterol dan bilirubin dalam tubuh.² Hati memiliki peran penting dalam terlaksananya metabolisme tubuh, namun organ ini sangat rentan terhadap berbagai gangguan metabolik toksik, mikroba, dan sirkulasi.³ Penyakit hepar di Indonesia menempati urutan ketiga setelah penyakit infeksi dan paru menurut data Depkes tahun 2010. Berdasarkan data WHO pada tahun 2011, angka kejadian

penyakit hepar di Indonesia masih tergolong tinggi dengan prevalensi sebesar 1-2,4%.⁴ Kerusakan pada sel hepar juga dapat disebabkan oleh adanya peningkatan radikal bebas yang disebabkan oleh beberapa jenis agen-agen toksik, antara lain formaldehid maupun asam format.⁵

Formaldehid (CH_2O) yang dikenal dalam bentuk sediaan formaldehid umumnya digunakan sebagai bahan pengawet mayat, namun sudah disalahgunakan sebagai bahan pengawet pada makanan. Hasil uji Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) tahun 2005 dari 700 sampel produk makanan yang diambil dari Jawa, Sulawesi Selatan, dan Lampung, 56% diantaranya mengandung formaldehid.⁶ Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Kalimantan Barat pada tahun 2014 menemukan berbagai jenis tahu, mie kuning dan mie putih, ikan gembung, bihun jagung, manisan nanas, dan buah cerry merah postif mengandung formalin di beberapa pasar tradisional yang dijadikan percontohan di wilayah

Pontianak dan Mempawah.⁷ Paparan formaldehid jangka pendek bagi tubuh adalah terjadinya iritasi saluran pernafasan, saluran pencernaan, pusing, dan mual. Namun, paparan secara oral maupun inhalasi jangka panjang dari formaldehid dapat mengakibatkan terjadinya kerusakan pada tingkat sel dan jaringan pada hepar atau hepar manusia. Berdasarkan penelitian dari Mahdi C et al pada tahun 2009, paparan formaldehid ke dalam tubuh menyebabkan terjadinya perubahan struktur protein pada jaringan hepar tikus. Penelitian tersebut menyatakan bahwa keberadaan formaldehid dalam tubuh dapat menurunkan secara nyata total protein dan albumin, namun menurunkan secara drastis kadar enzim *Aspartat Transaminase (AST)*, *Alanin Aminotransferase (ALT)*, *Alkaline Phosphatase (APT)*, dan IL-2.⁶

Formaldehid bersifat sangat reaktif yang dapat menyebabkan hilangnya aktivitas spesifik dari sistem enzimatis dalam tubuh. Sebagai akibatnya antara lain

terganggunya sistem enzim sitokrom P450 atau terganggunya proses oksidatif fosforilasi dalam tubuh. Efek yang ditimbulkan selanjutnya akan terjadinya asidosis dan suatu keadaan yang dinamakan dengan stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan suatu keadaan yang tidak seimbang antara kadar antioksidan dengan produksi *Reactive Oxygen Species (ROS)* dalam tubuh. Kondisi ini menyebabkan berkurangnya kadar antioksidan dalam tubuh yang mendorong terjadinya nekrosis pada jaringan, sehingga apabila ini berlanjut dapat menyebabkan terjadinya kerusakan dan kematian sel hepar.⁶ Rusaknya membran sel hepar menyebabkan bocornya protein-protein dan molekul-molekul lain keluar kemudian masuk dalam darah termasuk protein spesifik yang terdapat pada jaringan hepar. Salah satu protein intraseluler spesifik yang dapat keluar menuju darah adalah enzim transaminase spesifik yang terdapat di sel hepar yaitu enzim ALT tadi. Bila terjadi kerusakan pada hepar maka ALT

banyak dilepaskan ke darah, sehingga terjadinya peningkatan aktivitas spesifik ALT. Melalui mekanisme tersebut saat ini ALT menjadi salah satu enzim yang menjadi indikator kerusakan hepar.⁸

Kerusakan hepar akibat meningkatnya kadar radikal bebas dalam tubuh membutuhkan terapi yang tujuannya untuk mengurangi efek buruk dari peningkatan radikal bebas tersebut. Salah satu alternatif yang dapat diberikan adalah astaxanthin.⁹ Astaxanthin merupakan salah satu antioksidan yang dapat memutuskan dan menetralkan reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat dalam tubuh dengan cara memberikan satu elektronnya kepada radikal bebas, sehingga menjadi non-radikal.¹⁰ Astaxanthin (*3,30-dihydroxy-b-carotene-4,40-dione*) merupakan antioksidan eksternal yang mempunyai pigmen karotenoid alami dengan aktivitas biologis terbesar dan paling kuat dibandingkan dengan *lutein*, *lycopene*, *α -carotene*, *β -carotene*, *α -tocopherol*, *6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylcroman-2-*

carboxylic acid, maupun jenis karotenoid lainnya., 10 kali lebih kuat dibandingkan β -karoten, 100 kali lebih kuat dibandingkan α -tokoferol, dan tidak pernah menjadi pro-oksidan di tubuh.⁹ Penelitian oleh Menabe et al., bahwa pemberian astaxanthin dapat menurunkan produksi ROS dan menghambat translokasi serta aktivasi NF-kB pada tingkat mitokondria.¹¹

Berdasarkan latar belakang mengenai efek paparan formalin dan pengaruh pemberian astaxanthin terhadap efek paparan formaldehid tersebut, maka penulis ingin mengetahui efektivitas terapi astaxanthin terhadap peningkatan kadar ALT pada serum.

METODE

Alat

Kandang tikus, spuit injeksi dan oral, sonde lambung, spektrofotometer, sentrifuge, timbangan obat, timbangan hewan, tabung maserator, mikropipet,

gelas ukur, alat pengocok, corong pisah, tabung reaksi, handscoon, dan microtube

Bahan

Tikus putih jantan putih galur wistar, berumur 3 bulan, dengan berat badan \pm 200 gram, astaxanthin, formaldehid 37%, aquades 100ml, makanan standar, serbuk kayu, dan reagen *Analyticon Fluitest®*

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan desain *pre and post-test only control group*. Sampel yang digunakan adalah serum darah tikus yang telah diberikan perlakuan. Sebanyak 30 ekor tikus berusia dua hingga tiga bulan dibagi dalam 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol normal, kontrol negatif (formaldehid), dosis 1 (astaxanthin 12 mg/KgBB), dosis 2 (astaxanthin 24 mg/KgBB), dosis 3 (astaxanthin 48 mg/KgBB). Dilakukan masa adaptasi selama 14 hari dan perlakuan diberikan selama total 28 hari berikutnya. Pemberian formaldehid dilakukan selama 14 hari

pertama perlakuan pada semua kelompok, kecuali kelompok kontrol normal. Kemudian dilakukan pengambilan darah sebelum perlakuan (*pre-test*) melalui retroorbita. Selanjutnya pemberian perlakuan astaxanthin pada kelompok dosis 1, dosis 2, dan dosis 3 selama 14 hari berikutnya, setelah itu dilakukan pengambilan darah lagi setelah perlakuan (*post-test*) melalui retroorbita. Serum darah *pretest* dan *posttest* diuji dengan menggunakan reagen *Fluitest®Analyticon* kemudian data dianalisis secara statistik menggunakan *uji One-way Anova*, dan *uji T Berpasangan*.

HASIL

Tikus yang digunakan berjumlah 6 ekor per kelompok perlakuannya sesuai dengan rumus *Federer* dengan aktivitas enzim ALT yang diukur menggunakan metode *International of Clinical Chemistry (IFCC)* dengan pengukuran aktivitas enzim ALT dilakukan saat *pretest* (sebelum perlakuan) dan saat *posttest*

(setelah perlakuan). Rerata dan \pm SD aktivitas enzim ALT saat *pretes* dan *posttest* ditampilkan pada tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas Enzim ALT Tikus Pretest dan Posttest

Kelompok	Aktivitas enzim ALT Tikus (Mean \pm SD)	
	Aktivitas enzim ALT <i>Pretest</i>	Aktivitas enzim ALT <i>Posttest</i>
Kelompok Normal	20,057 \pm 0,56130	20,172 \pm 0,35496
Kelompok Negatif (-)	65,672 \pm 0,43513	40,229 \pm 0,48607
Kelompok Uji Dosis I	66,131 \pm 0,51791	20,401 \pm 0,56146
Kelompok Uji Dosis II	65,615 \pm 0,59218	18,338 \pm 0,56146
Kelompok Uji Dosis III	65,729 \pm 0,50606	17,536 \pm 0,48607

Dosis I = Dosis astaxanthin 0,216 mg/200gBB,

Dosis II = Dosis astaxanthin 0,432 mg/200gBB,

Dosis III = Dosis astaxanthin 0,864 mg/200gBB

Didapatkan terjadi penurunan rerata aktivitas enzim ALT pada seluruh kelompok, kecuali pada kelompok normal.

PEMBAHASAN

Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pemberian formaldehid dengan pemberian dosis 25 mg/KgBB selama 14 hari pada hewan coba memberikan hasil yang bermakna secara statistik antara kelompok kontrol normal dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan pada penelitian ini. Kerusakan pada jaringan hepar akibat dari paparan formaldehid terlihat dari kenaikan aktivitas spesifik dari enzim ALT pada

serum yang bermakna secara statistik. Enzim ALT merupakan enzim yang spesifik terdapat pada hepar karena banyak terdapat pada hepatosit dan konsentrasinya cenderung relatif lebih rendah di jaringan lain. Kerusakan pada sel hepar menyebabkan enzim dalam sel hepar dapat keluar dalam jumlah yang cukup banyak menuju ruang ekstraseluler, kemudian enzim-enzim tersebut akhirnya akan masuk kedalam peredaran darah. sehingga pada serum dapat ditemukan adanya peningkatan pada enzim ALT yang mendahului gejala lainnya, seperti kuning (ikterus).¹²

Metabolisme formaldehid menjadi asam format berlangsung di hepar dengan cepat sehingga pemberian formalin yang berlebihan akan mempengaruhi proses fisiologis sel-sel yang berada di jaringan hepar, contohnya adalah hepatosit. Namun, pada saat formaldehid telah dimetabolisme menjadi asam format justru format tersebut akan dimetabolisme lebih lambat, sehingga dapat terakumulasi di dalam darah. Hal ini

menyebabkan penurunan kadar bikarbonat dan penurunan pH dalam tubuh, dan mengakibatkan asidosis metabolik. Sedangkan pada hepar sendiri, formaldehid yang masuk ke hepar akan diubah dengan cepat menjadi asam format melalui enzim formaldehid dehidrogenase yang berada di *Aldehyde dehydrogenase 2 family* (ALDH2) mitokondria dan (ADH3) sitosol. *Alcohol dehydrogenase 3* (ADH3), juga disebut sebagai *glutathione (GSH)-dependent formaldehyde dehydrogenase*, yang mengoksidasi formalin menjadi asam format dalam dua tahapan. Tahap pertama, GSH bereaksi dengan formalin untuk membentuk *S-hydroxymethylglutathione* yang kemudian digunakan sebagai substrat ADH3 untuk menghasilkan *S-formylglutathione*. Konjugat *S-formylglutathione* dihidrolisis oleh *S-formylglutathione hydrolase* untuk menghasilkan format dan terjadi deplesi GSH.^{13,14} Proses eksresi dan metabolisme asam format tergolong reaksi yang lambat, sehingga dapat terjadi penumpukan asam

format di dalam hepar. Penumpukan asam format yang berlebihan akan menghambat langsung aktivitas dari enzim sitokrom oksidase. Penghambatan aktivitas dari enzim sitokrom oksidase akan menyebabkan penurunan sintesis dari *adenosine triphosphate* (ATP) yang akan menyebabkan terjadinya penumpukan Na^+ intraseluler akibat kegagalan pompa Na^+K^+ ATPase dalam mempertahankan keseimbangan ion sehingga menyebabkan pembengkakan sel dan juga disertai dengan penurunan kerja Ca^{2+} ATP dependent.¹⁵

Tubuh manusia sebenarnya telah memiliki beberapa pertahanan terhadap adanya kehadiran radikal bebas seperti beberapa sistem enzimatik dan non-enzimatik untuk menonaktifkan radikal bebas tersebut, yang meliputi superoksida dismutase (SOD), glutathione (GSH), katalase, dan antioksidan endogen lainnya. Paparan formaldehid yang berlebihan menyebabkan meningkatnya produksi ROS secara terus menerus dalam tubuh,

akibatnya sistem enzimatik yang berperan sebagai antioksidan alami mengalami penurunan. Ketidakseimbangan antara ROS dan antioksidan di dalam tubuh disebut sebagai stres oksidatif.¹⁶ Salah satu ROS seperti hidrogen peroksida dapat beraksi dengan senyawa dalam tubuh dan membentuk radikal hidroksil yang sangat reaktif. Radikal hidroksil tersebut menyebabkan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid menyebabkan kerusakan membran sel dan kemudian mengakibatkan struktur sel menjadi tidak normal dan merusak fungsi sel. Apabila suatu sel mengalami jejas yang disebabkan oleh berbagai faktor, maka akan terjadi serangkaian perubahan morfologi pada sel. Perubahan tersebut dapat bersifat subletal yaitu degeneratif atau pun letal berupa nekrotik. Apabila kondisi ini berlanjut secara terus-menerus dapat menyebabkan terjadinya kerusakan dan kematian sel hepar.⁶ Rusaknya membran sel hepar menyebabkan bocornya protein-protein dan molekul-molekul lain keluar kemudian

masuk dalam darah termasuk protein spesifik yang terdapat pada jaringan hepar seperti enzim transaminase, salah satunya adalah enzim ALT, sehingga terjadinya peningkatan aktivitas spesifik ALT. Melalui mekanisme tersebut saat ini ALT menjadi salah satu enzim yang menjadi indikator kerusakan hepar.⁸

Pada hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan aktivitas spesifik enzim ALT dengan rentang peningkatan yang sama pada kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan uji dosis I, uji dosis II, dan uji dosis III yang diberikan pajanan formaldehid. Namun pada kelompok kontrol normal yang tidak diberikan formaldehid tidak menunjukkan adanya peningkatan aktivitas enzim ALT pada serum dan rentang aktivitas enzimnya juga masih dalam batas rentang normal. Hal ini menunjukkan bahwa memang pada kelompok yang diberikan pajanan formaldehid telah terjadi kerusakan pada jaringan heparnya yang menyebabkan terjadinya peningkatan aktivitas enzim

ALT tersebut. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Abdulqader dan Mustafa (2014) yang mengamati kerusakan yang terjadi setelah pajanan formalin dengan dosis 1 ml/hari selama 7 hari secara inhalasi. Kerusakan yang terjadi berupa perubahan nukleus hepatosit, infiltrasi dari leukosit, dan terlihat nekrosis di beberapa tempat pada jaringan hepar.¹⁷

Hasil pada penelitian ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hidir Pekmez *et al* (2008) yang mengamati kerusakan pada jaringan hepar setelah diberikan pajanan formaldehid dengan dosis 10 mg/KgBB dan 25 mg/KgBB secara intraperitoneal dengan indikator kerusakan adalah enzim *superoksida dismutase* (SOD), enzim *glutathione peroksidase* (GSH-Px), enzim *katalase* (CA), enzim *xanthine oksidase* (XO), dan *malondialdehyde* (MDA). Hasilnya menunjukkan bahwa pajanan formaldehid pada kedua dosis tersebut sudah menyebabkan terjadinya kerusakan pada

jaringan hepar tikus yang dilihat dari indikator enzim SOD, GSH-Px, CA, dan XO yang menurun dan indikator kadar MDA yang meningkat.¹⁸ Selanjutnya berdasarkan penelitian Mahdi *et al* (2007) yang memberikan paparan formaldehid secara inhalasi, paparan formaldehid tersebut menyebabkan terekspresinya pita protein pada suatu sel. Akibatnya terdapat beberapa protein penting yang hilang dalam sel seperti enzim, antibodi, maupun protein pembentuk matriks sitoskeleton. Kehilangan beberapa protein tersebut dapat menyebabkan terjadinya kerusakan dan kematian pada sel hepar. Sehingga dapat disimpulkan bahwa paparan formaldehid pada dosis 25 mg/KgBB dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan hepar.⁶

Enzim ALT sebenarnya bukan hanya terdapat di jaringan hepar, tetapi juga terdapat pada jantung. Namun efek yang diberikan akibat pemberian formaldehid pada jantung tidak menyebabkan jantung mengalami nekrosis, berbeda halnya

seperti jaringan hepar yang sampai menimbulkan nekrosis akibat pemberian formaldehid sehingga menyebabkan enzim spesifik yang terdapat pada jaringan tersebut juga ikut dilepaskan menuju peredaran darah. Formaldehid yang masuk dalam tubuh akan dimetabolisme terutama di jaringan hepar menjadi asam format dan akumulasinya dapat menyebabkan nekrosis pada jaringan hepar. Sedangkan pada jantung, formaldehid akan menyebabkan terganggunya penanganan dan keseimbangan ion Ca^{2+} serta mengganggu kontraksi coupling dari eksitasi jantung. Formaldehid akan mengaktifkan ryanodine reseptor (RyR2) untuk mengganggu fungsi dari kerja otot jantung, sehingga menimbulkan efek pada tekanan darah arteri dan cardiac output dari jantung. Hal ini telah dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan oleh Daisuke Takeshita *et al* (2009) yang meneliti efek dari formaldehid pada sistem kardiovaskular dengan pemberian secara intravena menunjukkan penurunan

signifikan tekanan sistolik, heart rate, dan kardiak output yang mengindikasikan terjadinya gagal jantung akut. Kemudian pada kelompok tikus yang mengalami hipertrofi juga menunjukkan hasil yang sama pada penurunan tekanan sistolik, kardiak output, dan stroke volume pada jantung.¹⁹ Berdasarkan uraian tersebut dapat disimpulkan bahwa aktivitas enzim ALT yang meningkat dalam serum memang benar berasal dari jaringan hepar yang mengalami nekrosis.

Jaringan hepar yang rusak akibat pajanan formaldehid dapat diperbaiki dengan suatu terapi yang bertujuan untuk mengurangi efek buruk dari peningkatan radikal bebas tersebut. Pemberian terapi dengan menggunakan astaxanthin yang merupakan salah satu antioksidan dapat memutuskan dan menetralkan reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat dalam tubuh dengan cara memberikan satu elektronnya kepada radikal bebas sehingga menjadi non-radikal. Astaxanthin memiliki 13 rantai ganda terkonjugasi dan

kelompok OXO pada 4 dan 4' pada lingkaran sikloheksana yang secara signifikan meningkatkan aktivitas antioksidan dari astaxanthin. Astaxanthin juga mempunyai gugus hidroksil pada 3 dan 3', yang membuat molekulnya sangat polar. Kombinasi dari modifikasi tersebut meningkatkan aktivitas fungsi membran dan aksi mekanisme lainnya untuk melindungi dari kondisi degeneratif, yang tidak ditemukan pada antioksidan lain. Astaxanthin yang masuk dalam tubuh akan langsung dimetabolisme menjadi *3-hydroxy-4-oxo-β-ionone* dan *3-hydroxy-4-oxo-7,8-dihydro-β-ionone* oleh sel-sel hepatosit dan dapat meningkatkan kadar enzim sitokrom P450 (CYP) pada sel hepatosit.²⁰ Astaxanthin dapat mempertahankan integritas membran dan secara efektif menghambat formasi peroksidasi lipid serta dapat menangkap ROS tunggal dan menyisipkannya lewat rantai polyene berikatan rangkap, dengan demikian mengakhiri reaksi tersebut, selain itu astaxanthin juga memiliki ujung

polar yang dapat bereaksi dengan kepala fosfolipid pada lingkungan yang encer untuk melawan radikal bebas dari permukaan atau di dalam membran lipid bilayer.²¹

Astaxanthin mengikat radikal bebas spektrum luas dan spesies oksigen reaktif serta memicu *nuclear factor E2 related factor 2* (NRF-2) dalam memediasi sistem antioksidan endogen dalam tubuh.⁷⁴ Aktivasi dari siklus NRF2 dapat meningkatkan ekspresi dari enzim antioksidan, seperti glutathione peroksidase, glutathione S-transferase, dan heme oksigenase 1.^{75,76} Selain itu, NRF2 dapat meningkatkan jumlah glutathione (GSH), suatu molekul antioksidan yang sangat penting untuk mempertahankan reaksi redoks seluler, dengan cara meningkatkan regulasi ekspresi dari glutathione reduktase, sebuah enzim yang mengembalikan kapasitas reduksi dari GSH. Peningkatan dari material-material tersebut dapat menekan produksi ROS dan meningkatkan ekspresi enzim antioksidan pada sel-sel

hepatosit, sehingga astaxanthin dapat mencegah kerusakan oksidatif dan dapat mengembalikan fungsi normal pada sel-sel hepatosit yang tadinya rusak.²²

Pemberian astaxanthin selama 14 hari dalam penelitian ini diberikan dalam tiga jenis dosis pada kelompok uji dosis I sebesar 12 mg/hari, uji dosis II sebesar 24 mg/hari, dan uji dosis III sebesar 48 mg/hari sedangkan pada kelompok kontrol normal dan negatif hanya diberikan pangan standar dan CMC 0,5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada dosis astaxanthin 12 mg/hari, 24 mg/hari, dan 48 mg/hari mengalami adanya penurunan aktivitas pada enzim ALT demikian pula pada kelompok kontrol negatif walaupun tidak signifikan seperti kelompok uji dosis I, II, dan III. Penurunan aktivitas spesifik enzim ALT pada kelompok uji dosis I, II, dan III berbeda-beda untuk tiap-tiap kelompoknya. Hal ini dipengaruhi oleh dosis astaxanthin yang diberikan pada tikus. Semakin besar dosis astaxanthin yang diberikan, maka efek yang

ditimbulkan dalam memperbaiki kerusakan jaringan juga akan semakin baik pula. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif yang tidak berikan apapun juga mengalami penurunan aktivitas enzim ALT walaupun tidak diberikan astaxanthin, hal ini dikarenakan adanya regenerasi yang terjadi pada jaringan hepar sehingga dapat menurunkan aktivitas dari enzim ALT tersebut.

Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Menabe *et al* (2007) yang menggunakan astaxanthin untuk melindungi dari stress oksidatif yang disebabkan oleh kondisi hiperglikemia. Pada penelitian tersebut didapat hasil bahwa pemberian astaxanthin dapat menurunkan produksi ROS dan menghambat translokasi serta aktivasi NF- κ B pada tingkat mitokondria.¹¹ Kemudian sesuai juga dengan penelitian Gulen D. Curek *et al* (2009) yang memakai astaxanthin dengan dosis 5 mg/kg/hari untuk memperbaiki kerusakan yang terjadi pada jaringan hepar yang rusak akibat luka

iskemik reperfusi. Pemberian astaxanthin menunjukkan hasil terjadinya penurunan dari aktivitas enzim ALT dan xanthine oksidase (XO).²³ Sehingga dapat disimpulkan bahwa astaxanthin dapat memperbaiki kerusakan yang terjadi pada jaringan hepar yang diberikan pajanan formaldehid dengan kelompok uji dosis III sebesar 48mg/hari merupakan dosis terbaik untuk memperbaiki kerusakan pada sel-sel hepar.

KESIMPULAN

Pemberian astaxanthin dengan dosis 12 mg/hari, 12 mg/hari, dan 48 mg/hari memperbaiki kerusakan jaringan hepar melalui penurunan aktivitas spesifik enzim ALT pada serum *Rattus norvegicus* galur wistar yang diinduksi formaldehid secara oral. Dosis terbaik pemberian astaxanthin pada *Rattus norvegicus* galur wistar yang diinduksi formaldehid secara oral berdasarkan aktivitas spesifik enzim ALT adalah 48 mg/hari.

DAFTAR PUSTAKA

- 1 Price SA, Wilson, Lorraine M. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Volume 1. Ed 6. Jakarta: EGC; 2006; 211-17.
- 2 Sherwood L. Fisiologi Manusia Dari Sel Ke Sistem. Jakarta: EGC; 2011; 272-8.
- 3 Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Buku Ajar Patologi. 7th Ed, Vol. 2. Jakarta: EGC; 2007; 2
- 4 Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2010; 2(2); 1-20.
- 5 Narayanaperumal JP, Ramasundaram SK, Sundaramahalingam M, Rathinasamy SD. Methanol-Induced Oxidative Stress in Rat Lymphoid Organs. Journal of Occupational Health. 2006; 48: 7-20.
- 6 Mahdi C, Aulaniam, MA Widodo, Sumarno/Yoghurt sebagai Detoksikan yang Efektif Terhadap Toksisitas Formalin yang Terpapar Dalam Makanan. Jurnal Protein. 2007; 15(1); 9-16.
- 7 Data primer: Laporan hasil sampling dan uji bahan makanan yang mengandung formalin di pasar tradisional percontohan. Balai Besar BPOM Kalimantan Barat. 2014.
- 8 Sacher and McPherson. Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium. Jakarta: EGC; 2004.
- 9 Biswal S. Oxidative Stress and Astaxanthin: The Novel Supernutrient Carotenoid. International Journal of Health & Allied Sciences. 2014; 3(3); 147-53.
- 10 Liu Q, Huiyuan Y. Antioxidant Activities of Barley Seeds Extracts. Food Chemistry. 2007; 102: 732-37.
- 11 Manabe E, Handa O, Naito Y, Mizushima K, Akagiri S, Adachi S, *et al.* Astaxanthin Protect Mesangial Cells from Hyperglycemia Induced, Oxidative Signaling. J Cellular Biochem; 2007.
- 12 Akbar N. Kelainan Enzim pada Penyakit Hati. Dalam : Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I Edisi 5. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2009.
- 13 Klaassen CD. Casarett and Doull's Toxicology the basic science of poisons. New York: Mc Graw Hill; 2001.
- 14 IARC. Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tertbutoxypropan-2-ol. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 88; 2006.
- 15 Schulte U, Bernauer S, Madle H, Mielke U, Herbst H. Assessment of the carcinogenicity of formaldehyde. Berlin: 2006.
- 16 Pramono S. Pengaruh formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu terhadap gambaran histopatologis hepar tikus wistar. Semarang: Universitas Diponegoro; 2012.
- 17 Abdulqader S, Mustafa I. The protective role of vitamin c against formaldehyde induced-

- hepatotoxicity and nephrotoxicity in male rats. *IOSR J Pharm Biol Sci*; 2014; 9(4): 21–6.
- 18 Pekmez H, Çolakoğlu N, İsmail Z, Kuş İ, Ögeturk M, Ramazan H. The Effect of Melatonin Hormone on Formaldehyde-Induced Liver Injury: A Light Microscopic and Biochemical Study. *Firat Univ*; 2008; 13(2): 92–7.
 - 19 Takeshita D, Nakajima-Takenaka C, Shimizu J, Hattori H, Nakashima T, Kikuta A, Matsuyoshi H, Takaki M. Effects of Formaldehyde on Cardiovascular System in In Situ Rat Hearts: Basic & Clinical Pharmacology And Toxicology, Vol.105, Issue 4; 2009.
 - 20 During A, Dawson HD, Harrison EH. Carotenoid transport is decreased and expression of the lipid transporters SR-BI, NPC1L1, and ABCA1 is downregulated in Caco-2 cells treated with ezetimibe. *J Nutr*; 2005.
 - 21 Yang Y, Seo JM, Nguyen A, Pham TX, Park HJ, Park Y. Astaxanthin-rich extract from the green alga *Haematococcus pluvialis* lowers plasma lipid concentrations and enhances antioxidant defense in apolipoprotein E knockout mice. *J Nutr*; 2011.
 - 22 Wolz E, Liechti H, Notter B, Oesterhelt G, Kistler A. Characterization of metabolites of astaxanthin in primary cultures of rat hepatocytes. *Drug Metab Dispos*; 1999; 27: 456-62.
 - 23 Curek G, Cort A, Yucel G, Demir N, Ozturk S, Elpek G, Savas B, Aslan M. Effect of Astaxanthin on Hepatocellular Injury Following Ischemia / Reperfusion: Toxicology Study. Elsevier; 2009.